

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**



⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑭ 公表特許公報 (A)

⑮ 特許出願公表

昭57—501236

⑯ Int. Cl.<sup>3</sup>

A 61 K 45/02  
// C 07 G 7/00  
C 12 P 21/00

識別記号

庁内整理番号

7432—4C  
6956—4H  
7235—4B

⑰ 公表 昭和57年(1982)7月15日

部門(区分) 3(2)

審査請求 未請求

(全 7 頁)

⑱ 異種インターフェロン分離物の生物学的活性成分の投与

⑲ 特 願 昭56—502921  
⑳ 出 願 昭56(1981)8月18日  
㉑ 翻訳文提出日 昭57(1982)4月22日  
㉒ 国際出願 PCT/US81/01103  
㉓ 国際公開番号 WO 82/00588  
㉔ 国際公開日 昭57(1982)3月4日  
㉕ 優先権主張 ㉖ 1980年8月22日 ㉗ 米国(US)  
㉘ 180464  
㉙ 発 明 者 カミンス・ジョセフ・エム・ジュニア

⑲ 出 願 人 アメリカ合衆国79109テキサス・アマリ  
ロ・ウエスト45ス・ストリート4101  
ユニヴァーシティ・オブ・イリノイ・フ  
アウンデーション  
アメリカ合衆国61801イリノイ・アーベ  
イナ・イリニ・ユニオン224  
㉚ 代 理 人 弁理士 角田嘉宏  
㉛ 指 定 国 CH(広域特許), DE(広域特許), FR  
(広域特許), GB(広域特許), JP, NL  
(広域特許)

22

請求の範囲

1. 異種哺乳動物細胞から分離されたインターフェロン  
蛋白質の生物学的活性を有する画分を哺乳動物に投与  
する方法において、前記インターフェロンを消化環境  
で処理して、非種特異性の生物学的活性を有する画分  
から通常混在するポリペプチドまたは炭水化物を実質  
的に除去し、このように処理されたインターフェロン  
の生物学的活性を有する画分を被処理動物の循環系に  
投与することからなる方法。
2. 請求の範囲第1項に記載の方法において、前記の処  
理と投与が、被処理動物の栄養管中に前記インターフ  
エロンを導入することからなる方法。
3. 請求の範囲第1項の方法において、前記の処理がイン  
ビトロで行われ、処理されたインターフェロンが前  
記投与に先立つて前記消化環境から回収される方法。
4. 請求の範囲第3項の方法において、前記投与が前記  
のごとく処理、回収されたインターフェロンの非経口  
投与である方法。
5. 請求の範囲第1項の方法において、異種動物由来の  
細胞から分離された前記インターフェロンをヒト、ネ  
コ、ウシ、ウマ、ウサギまたはブタの細胞から分離さ  
れたものである方法。
6. 請求の範囲第1項の方法において、投与を受ける哺  
乳動物がヒト、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギまたはブタ

23

である方法。

7. 請求の範囲第1項の方法において、異種動物由来の  
細胞から分離された前記インターフェロンがウシ由来  
の細胞であり、投与を受ける動物がヒトまたはネコで  
ある方法。
8. 請求の範囲第7項の方法において、前記インターフ  
エロンが繊維芽細胞インターフェロンである方法。
9. ウイルスおよび腫瘍性病態に対する哺乳動物の免疫  
応答能力を高めることが必要ならばに哺乳動物の循  
環系に外因性インターフェロン蛋白質を投与して前記  
免疫応答能力を高める方法において、投与を受けるべ  
き哺乳動物の栄養管に対し、異種哺乳動物由来の細胞  
から単離されたインターフェロンの有効量を投与する  
ことにより、被投与哺乳動物の消化管内の消化環境に  
曝露し、前記インターフェロンの非種特異性抗ウイル  
スないし抗腫瘍性画分を消化管組織から吸収せしめる  
ことにより被投与哺乳動物の循環系に移行せしめる方  
法。
10. 請求の範囲第9項の改良方法において、栄養管に投  
与されるインターフェロンの量が体重毎当り約10な  
いし約1000単位であり、薬学的に許容しうる希釈  
剤、賦形剤ないし担体と共に投与される剤型で用いら  
れる方法。
11. 請求の範囲第9項の改良において、異種動物の由来

の細胞から分離された前記インターフェロンがヒト、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギまたはブタ由来の細胞から分離される方法。

12. 請求の範囲第9項の改良において、授与を受ける哺乳動物がヒト、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギまたはブタである方法。
13. 請求の範囲第9項の方法において、異種動物由来の細胞から分離された前記インターフェロンがウシ由来の細胞であり、授与を受ける哺乳動物がヒトである方法。
14. 請求の範囲第13項の方法において、前記インターフェロンが絨毛芽細胞インターフェロンである方法。
15. 請求の範囲第13項の改良方法にして、高めるべき免疫応答が良性乳頭病腫である方法。
16. 請求の範囲第13項の改良方法にして、高めるべき免疫応答が悪性黒色腫病腫である方法。
17. 請求の範囲第9項の改良にして、異種動物由来細胞から分離された前記インターフェロンがウシ由来細胞から分離され、授与を受ける動物がネコであり高められるべき応答がネコ白血病腫である方法。

## 2

I. Gresser 編集, Vol. 1, pp. 1-28, Academic Press, London (1979)に記載されている「インターフェロンは何故今日臨床的に使用されないか」; Stewart, 「インターフェロン系」Springer-Verlag, N. Y., N. Y. (1979); Dunnick, et al, 「外因性インターフェロンの臨床使用経緯」, J. Infect. Diseases, 139, 61, pp. 109-123 (1979)。

インターフェロンに関する技術、特性、使用法について得られている全ての知識の一助となつてゐる研究は起源が同じでないため、インターフェロンの類別化といった点においては全く画一性がない。また、インターフェロンが臨床効果を発揮する際の作用様式に関してはかなりの数の、時々矛盾した、理論がある。以下の概要は、本発明を理解するうえに必要な予備知識を比較的公正に分析したつもりである。

#### A. インターフェロンの起源、命名並びに生理学的特徴

最初鳥類の細胞(ニワトリ原細胞)から分離されたが、インターフェロンの産生は、哺乳類、両生類、爬虫類等を含むあらゆる種類の脊椎動物の細胞において観察されている。脊椎動物の細胞によるインターフェロン産生はめつたに自発的に起こることはないが、ウイルス、核酸(ウイルス由来核酸並びに合成ポリヌクレオチドを含む)、リポ多糖類並びに種々の抗原やマイトゲンを含む様々な物質で細胞を処理(インビトまたはインビトロ)することにより容易に「誘起」

#### 異種インターフェロン分離物の生物学的活性成分の授与

##### 背 景

本発明はインターフェロンの治療的使用全般に関するものであり、特に異種哺乳動物由来の細胞から得たインターフェロン糖蛋白分離物による、ヒトを含む哺乳動物の治療に関するものである。

「インターフェロン」とは一般には脊椎動物にみられる一群の糖蛋白を包含する言葉であり、抗ウイルス作用、抗細胞増殖作用並びに免疫調節作用を含む広範な生物学的活性スペクトルを、その物質を産出する動物種において示すことが知られている。

Isaacs および Lindeman [Proc. Roy. Soc. London (Ser. B), Vol. 147, pp. 258- (1957) 並びに U. S. Patent 3,699,222] により初めてインターフェロンについて記述されて以来、この物質は世界的規模で集中的に研究されている。インターフェロンは、その合成、分子特性、臨床応用、並びにその抗腫瘍作用、抗ウイルス作用及び免疫系に対する作用についての作用機能に関して数多く報告されている。一般的には次の論説並びに特許集を参照のこと; DeMaeyer, et al., Comparative Virology, Vol. 15, pp. 205-284, Plenum Press, N. Y., N. Y. (1979) の第5章に記載されている「インターフェロン」; Cantrell, Interferon 1979,

## 3

させることが出来る。

インターフェロンは、一般的には、それを産生する動物細胞の種類(例えば、ヒト、ネズミ、ウシ等)との関係、並びに関連細胞の種類(例えば白血球、リンパ芽球、絨毛芽細胞)及び、時折、インターフェロン産生を引き起こす誘起物質の種類(例えばウイルス、免疫)との関係によつて命名されている。最近、インターフェロンはある研究者によつてその誘起様式に従つて漠然とタイプIあるいはタイプIIに分類されている。前者に分類されたものには、ウイルスや核酸によつて誘起されたインターフェロンがあり、後者に分類されたものには抗原やマイトゲンによる誘起によりリンホカインとして産生された物質がある。いろいろな型のインターフェロンは、大きさ、抗原性、糖付加の程度並びにpH安定性によつて区別し得る。

インターフェロン糖蛋白の正確な分子構造の決定は、現在の技術能力では無理である。インターフェロンがトリプシンによる不活性化のため蛋白性物質であると特徴付けられてからしばらくの間は、その精製や独特の性質を見い出そうとする試みは、単一細胞型から誘起した標品並びに単一の特異的誘起剤を用いた標品においてさえ、その高度の特異性並びに明らかな異質性のため失敗に終つてゐる。1例を挙げれば、Thang, et al. (P. N. A. S., Vol. 76, 68, pp. 3717-3721 (1979)

1) は、白血球と Sendai ウイルスのチャレンジにより産生させたヒト白血球インターフェロンはアガロース-ポリ、ネグレオド親和性クロマトグラフ法により、少なくとも「2種類の亜型」に分離出来、その2者は順次、程度の違う抗ウイルス作用を示す、と報告している。

ヒトおよびネズミ由来のインターフェロンは、この知識、例えばヒト白血球並びにリンパ芽球インターフェロンの分子量が13,000から25,000ダルトンの間にあるということにもかかわらず、抗ウイルス活性により国際単位(「IU」)で定量化されている。

#### B. インターフェロンの生物学的活性

一番初めには、インターフェロンはもっぱら抗ウイルス剤として使用され、現在まで最も臨床的に有効な適応はウイルス疾患あるいはウイルス関連疾患の治療である。しかし、外因性インターフェロンが時々種々の転移性疾患を進行あるいは軽減させ得たということが明らかとなった。1978年末までの抗ウイルス並びに抗細胞増殖性治療剤としてのインターフェロンの臨床使用の概要は、前に示した Dunnick, et al. の報告に示されている。

本研究で臨床用に選択したものはヒト白血球インターフェロンであり、大量のヒト数層白血球の収集および精製、ウイルスによる誘起並びに培養増殖からの分

例えば、トリプシン、ペプシン、キモトリプシン、カルボキシペプチダーゼAおよびB)並びに腸粘膜細胞中の蛋白分解加水分解酵素(例えば、アミノペプチダーゼ)により分解作用を受けた後も、生物学的活性が残存し得るとはとても思えない。経口投与によつては効力がないとのこの考えは、当業界において広く理解されていること、即ち消化環境はあらゆる蛋白性物質(蛋白分解酵素それ自体は蛋白である)に対して不利な条件とは言い難いが、蛋白は一般には胃腸管壁を通過して輸送されることはないということにより大部分支持されている。従つて、インターフェロン糖蛋白は消化環境に耐え得るが、消化管組織による吸収により循環系に出現するとは思えない。

巨大分子の蛋白性物質がそのまま吸収されることに關する例外的な「法則」はほとんどない。例えば、Wiseman, 「腸管吸収」, pp. 65-67, Academic Press, N. Y., N. Y. (1964); Backman, et al., Anat. Res., Vol. 155, 603-622 (1966); Walker, et al., Gastroenterology, Vol. 67, 531-550 (1974); Warshaw, et al., Gastroenterology, Vol. 66, pp. 987-992 (1974); Freeman, et al., Ann. Rev. Med., Vol. 29, pp. 99-116 (1978); U. S. Patent 3,004,893; U. S. Patent 4,132,776 を参照のこと。一般に、最も重大な例外は、腸管上皮細胞壁が成熟する前の新生児動物の消化管組織により巨大分子

難を含む操作により「大量生産」した。

ヒト由来のインターフェロンが必要なことは、もちろん、インターフェロンが「極めて特異的」であるということ、即ち、起原細胞と同様の組織においてしかインビボで生物学的に活性でないとの近年の結論によるものである。

インターフェロンは経口的に、即ち筋肉内並びに皮内に投与される。また、外用的に使用して成功した例が幾つか報告されている。静脈内にはめつたに投与されることはない。粗製物やかなり精製された分離物においても「不純物」による重大な副作用が発現するからである。ちなみに、 $1-5 \times 10^4$  IU のインターフェロンを投与した場合、実際に臨床研究に使用されるインターフェロン分離物はインターフェロン糖蛋白を約0.1%未満しか含有しておらず、その製品の残りは細胞残片、ウイルス断片といった無関係な物質である。今日まで、インターフェロンの経口投与により治療的に成功したとの報告は見あたらない。このことは、この糖蛋白は、例えば治療対象となる哺乳動物において見られるような消化環境への曝露に耐え得ないとの広く支持されている意見と矛盾するものではない。その糖蛋白は、その分子がカルボヒドラーゼ(例えば、唾液中のアミラーゼ)あるいは単なるエステラーゼ、あるいは胃腸管分泌物中の蛋白分解加水分解酵素(例

が吸収されることである。事実、当業界においてインターフェロンが経口投与により有効であつたことが新生児マウスを用いた研究において唯一知られている(Schafer, et al., Science, Vol. 176, pp. 1326-7 (1972))。

抗ウイルス並びに抗腫瘍療法に用いられるほか、インターフェロンはむしろ最近免疫調節作用、即ち免疫賦活並びに免疫抑制的性質を育することがわかつている。例えば、Sonnenfeld, et al., 「免疫におけるインターフェロンの調節的役割」, Annals. N. Y. Acad. Sci., Vol. 322, pp. 845-855 (1979) を参照のこと。インターフェロンの免疫学的作用の評価を目的としたヒトでの臨床的研究あるいはin vivoでの動物実験は報告されていないが、インターフェロンの抗腫瘍作用は少なくとも一部には免疫刺激あるいは所謂「natural killer細胞」、マクロファージ並びにT-リンパ球の活性化が関係していることが示されている。例えば、Kershner, 「癌化学療法の新しい方向」, A. S. M. News, Vol. 46, 63, pp. 102- (1980) を参照のこと。

最終的に言えることは、外因性インターフェロンの「新しい」生物学的活性は現在も首尾一貫して探究されているということである。Cantell, et al., [New Eng. Jour. Med., Vol. 302, 618, pp. 1032 (1980)] はインターフェロンが高密度リボ蛋白水準並びに総コレステ

ロール値を一過性に低下させることを報告し、インターフェロンがヒトにおいて心血管疾患に影響を及ぼす可能性のあることを示唆している。

現在、インターフェロンが臨床的に広く使用されていないのには多くの要因があるが、主には極めて臨床的に有望な物質、即ちヒト白血球インターフェロンの供給が不足しているからである。最大のインターフェロン生産高をはこる国フィンランドでは、1,000例の癌瘍角膜炎あるいは200例の慢性肝臓疾患を治療するのに十分な量が毎年製造されていると見られていた。

臨床に供するヒト白血球インターフェロンが不足しているため、多くの研究者は、非ヒト由来インターフェロンを化学的に修飾してもつと容易にヒトに使用できる方法が見つかるかも知れないとの期待をもつて、種特性現象をより徹底的に再検討している。一般的に言つて、これら研究者の第一人者として、W.A. Carter が居る。〔例えば、「ミニレビュー、糖付加：膜内分子異質性並びに哺乳動物由来インターフェロンの異種活性」、Life Sciences, Vol. 25, pp. 717-28, Pergamon Press (1979); 「白血球由来インターフェロンの炭水化物修飾による“種障壁”の迂回」、Cancer Research, Vol. 39, pp. 3790-3795 (1979); Carter, et al, Molecular Pharmacology, Vol. 15, pp. 625-690 (1979)〕。Carter は、

ウイルス感染から異種細胞を保護するインターフェロンの *in vitro* 活性に関して、当該技術が教えるところを徹底的に再検討して英成的モデルを提示し、その中でインターフェロン糖蛋白が糖系統を越え得るか越え得ないかはその炭水化物部分にあり、糖を越えてのその生物学的活性はポリペプチド部分の機能であることを示している。Braude, et al., 「ヒト白血球インターフェロンの同種および異種抗ウイルス作用の蛋白分解酵素による不活性化並びに分離」、Biochem. Biophys. Res. Comm., Vol. 89, No. 2, pp. 612-619 (1979)、および前出の Thang, et al., の報告を参照のこと。しかしながら、現在までのところ、同種インターフェロンの投与により通常認められる抗ウイルス、抗細胞増殖および免疫調節作用を異種インターフェロンがインビボで示したという成功例は報告されていない。

要するに、インターフェロン糖蛋白は、現在のところ当業界においては、極めて大きな治療上の可能性を秘めているものとして認識されている。インターフェロンの生物学的活性成分や正確な作用様式は、いままでのところでは完全にされていない。種特性を有すればその治療上の使用範囲は極めて制限され、また同時にインターフェロンの臨床適応も極めて制限されたものである。

要約

10

本発明によれば、ヒトを含む哺乳動物は、異種哺乳動物由来の細胞から分離したインターフェロン糖蛋白が投与され、治療的に有効であつた。もつと明確に言うならば、今まで同種インターフェロン分離物を経口投与した場合にしか通常は得られない抗ウイルス、抗細胞増殖および/または免疫調節作用は、もつと簡単に利用出来る異種哺乳動物由来のインターフェロン糖蛋白分離物の投与により得ることが出来るということである。異種インターフェロン製品はまず消化環境にさらされ、それからそこで非種特性の生物学的活性を有する画分は、その生物学的活性画分と通常結合している活性と無関係なポリペプチドおよび/または炭水化物から十分に遊離する。その活性成分はおそらく消化管組織を通過して、投与された動物の循環系に移行する。

本発明の最も望ましい実施対応においては、異種インターフェロンは被処理哺乳動物の栄養管に投与されており、そこで消化管中の分解物質がその分離物に作用を及ぼしている。そのような消化環境内においては、インターフェロンの生物学的活性画分の活性に本質的に必要でない炭水化物および/またはポリペプチド物質（しかし通常分離の際はそので結合している）は分解し、その際生物学的活性画分の不活性化は認められない。このような活性画分が、その後消化管組織を経て吸収され、被処理動物の循環系に入り込む。あるいは、異種インターフェ

11

ロン分離物を被処理哺乳動物の消化環境を十分に再現する条件下でインビトロ処理し、その後その哺乳動物に経口的に、あるいは、適当な分離操作をした後経口的に投与する。

本発明で言う処置可能な哺乳動物並びにインターフェロン産生細胞として適切な哺乳動物とは、ヒト、ネコ、ウマ、ウサギおよびブタである。本発明において用いられるインターフェロンの型は、絨毛芽細胞インターフェロン並びに免疫型インターフェロンである。現在の段階で本発明の望ましい実施方法は、例えばおそろくウイルス性の悪性黒色腫および良性乳腺腫を含む癌瘍性および/またはウイルス性疾患に罹患しているヒト患者にウシの絨毛芽細胞インターフェロンおよび/または免疫型インターフェロンを経口投与している。

本発明の外観や利点は以下の実施例を含む詳細な記述を考慮すれば、もつと明らかになるであろう。

詳細な説明

本発明において、「インターフェロン」並びに「インターフェロン糖蛋白」は同義に用いており、通常当該技術分野において用いられている意味であり、U.S. Patent No. 3,699,222 に用いられている意味に限定していない。

インターフェロンについて言える「異種哺乳動物由来の細胞から分離した」との表現の仕方は、インビトロの哺乳動物細胞培養地並びにインビボの哺乳動物細胞浸

出物あるいは分泌物からばかりでなく、その他の適切な細胞源からの由来をも示している。この様に、この表現は哺乳動物のDNAに影響を及ぼす遺伝形質転換の対象である非哺乳動物細胞の成長支持培地からのインビトロ分離物として得られる様なインターフェロンを示すことを意味している。「分離物」は、細胞成長培地、細胞浸出物並びに細胞分泌物中に存在するインターフェロンを精製した標品を意味しており、特に正確なインターフェロン濃度を限定しているものではない。

「消化環境」は被処理哺乳動物の消化管内に一般に存在する条件を十分に再現する条件を意味しており、例えばpHや温度条件、並びに加水分解酵素、加糖酸分解酵素、酸化還元酵素、転移酵素、脱カルボキシル化酵素、水和酵素あるいは異性化酵素が1つ以上存在することである。

本発明において、「栄養管」および「消化管」は本質的に同義に用いており、哺乳動物のその解剖学的部分、例えばヒトにおける口、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸並びに大腸を意味しており、そこで消化過程が営まれる。「経口投与」は消化器中に導入する以外の方法で哺乳動物に投与することを包括して意味している。「循環系」は哺乳動物の血液および/またはリンパ系を包括して意味している。

以下の実施例は本発明を例示するものであり、ここに

ンザー3ウイルスのSF-4株によるインターフェロン産生」、Am. J. Vet. Res., 28, pp. 619-628 (1967)。

#### 実施例2

ウシの鼻分泌物インターフェロンは次の様に調製した。子牛に感染性ウシ鼻気管炎(IBR)ウイルスのワクチニア株を体内に接種し、鼻分泌物をウイルス接種後2~8日の間タンポンによつて集めた。[McKercher, et al., 「家畜から未希釈鼻分泌物を簡単に得る方法」, Am. J. Vet. Res., 34, pp. 887-888 (1978)]; Cummins, et al., 「感染性ウシ鼻気管炎ウイルスにより誘起された鼻分泌物インターフェロンの子牛の鼻ウイルス感染に対する保護効果」, Am. J. Vet. Res., 41, pp. 161-165 (1980); Todd et al., Infect. Immun. 5, pp. 699-706 (1972)」。鼻分泌物は、実施例1に記述されている様に、透析並びに遠心分離を行なった。

#### 実施例3

本実施例は、経口投与による異種インターフェロンの、おそらくウイルス性と思われるヒト患者の良性乳頭腫の治療における臨床的有効性を示すものである。

A. 直径8ミリメートルの、約10年間存在していた疣を有する男性患者1名に、実施例2に従つて調製したウシ・インターフェロン80,000単位を経口投与した。1回投与量は約10mlの組織培養培地に含まれていた。疣は治療3週間以内に消散し、以後再発しなかつた。

は、異種哺乳動物由来細胞から得たインターフェロン糖蛋白分離物が被処理動物の栄養管への投与により循環系にあらわれることを示しており、そのためこの分離物は被処理動物の消化環境にさらされ、それから栄養管壁組織を経て生物学的活性成分が吸収されることを示している。

#### 実施例1

ウシの被雄芽細胞インターフェロンは次の様に調製した：

一次ウシ胎仔腎臓(BFK)またはウシ膀胱(BT)の細胞は、全面成長がみられるまで培養した。ブルータングウイルスの原液(国際セロタイプ10)は新生児ハムスターの腎臓(BHK)細胞あるいはVERO細胞で調製し、それは $10^5 \sim 10^6$  PFU/mlの力価を示した。BFKあるいはBT細胞をブルータングウイルスで感染を試み(感染の多重度は1以上が最適)、上澄液は細胞変性効果(CPE)が全細胞シートにおこつた時、即ち約24時間、採取した。この上澄液はKCl-HCl緩衝溶液(pH 2.0)中で24時間透析し、さらにリン酸緩衝生理食塩液(pH 7.4)中で24時間透析し、 $100,000 \times g$ で60分間遠心分離した。インターフェロン活性(IUに対して「単位」として表わした)は、ブランク減少法に従い、BFB細胞に対する攻撃ウイルスとして水疱性口内炎ウイルス(VSV)を用いて検定した[Rosenquist および Loan, 「パラインフルエ

た。

B. 数年間、足の裏に2つの疣と黄色症を訴えている女性患者1名に、実施例1のウシ・インターフェロンを最初合計10,000単位、9等分して1日2回投与のスケジュールで、経口投与した。約3週間後、足の裏の疣はかなり縮小した。最初の投与から約8週後、実施例2のインターフェロンの約2,500単位を4等分して、1日2回経口投与した。1週間以内に疣は血管反応を示し、赤くなつた。治療開始後約12週に、実施例2のインターフェロン5,250単位を1回経口投与し、1週間後実施例のインターフェロン21,000単位を10等分して1日2回経口投与した。その後8週間以内に足の裏の疣は圧迫すると投分痛みがあり、乾燥状態を示し、更にその大きさも小さくなつた。これ以上インターフェロンは投与しなかつたので、疣の改善もそれ以上認められなかつた。

黄色症は、2年間変化がみられなかつたが、最初のインターフェロン投与後1週以内に平たくまた大きさも小さくなつた。黄色症は再発したが、一部は2回目のインターフェロン投与により再度減退した。黄色症は再発し、3回目の投与を行なつても本質的には未変化のままであつた。

C. 足裏に1つの疣をもつ男性患者1名に実施例2のインターフェロン8,600単位を一回経口投与させた。

2週以内に、尻への血液供給が増加し、大きさも約半分になったように思えた。これ以上治療は行わず、尻の改善もそれ以上認められなかった。

#### 実施例 4

本実施例は、悪性黒色腫ヒト患者の治療に経口投与した異種インターフェロンの臨床的有効性に関するものである。

A. 最初の女性患者1名は2年間脚に悪性黒色腫を患っていた。これまでの治療処置としては外科手術があり（診断後約8カ月時）、風湿リンパ節への転移が明らかとなった。外科手術後1年間行なつた化学療法は無効であり、またインターフェロン療法前5カ月に開始したLaetrile処置も無効であつた。インターフェロン療法の開始時、約40の腫瘍が脚にみられた。Laetrile療法を続行すると共に、患者に実施例2のウシインターフェロンを総量110,000単位、以下の投与計画に従い経口投与した。

|     |          |
|-----|----------|
| 第1週 | 6,600単位  |
| 第2週 | 27,000単位 |
| 第3週 | 36,600単位 |
| 第4週 | 39,300単位 |

治療開始後4カ月以内に、1つを除き全部の腫瘍が消失し、唯一残つた腫瘍も治療開始後8カ月までに完全に減退した。治療開始後22カ月現在、腫瘍の再発

かなりひいた。治療中に新しい腫瘍の出現はみられず、最も大きな腫瘍は血管性変化を来している様に思えた。患者は、インターフェロン治療中は完全に寛解しているが、インターフェロン投与が完了すると再発する「灼熱」感を脚に訴えている。

#### 実施例 5

本実施例は、ウシインターフェロンの末期転移性乳癌ヒト患者への経口投与に関するものである。実施例1のインターフェロンの総量8,400単位を、21等分して1日2回投与した。本患者は脳および骨に転移を来とし、治療開始後2週で死亡した。

#### 実施例 6

本実施例は、ネコ白血病の治療に経口投与した異種インターフェロンの臨床的有効性に関するものである。慢性口腔潰瘍、再生不良性貧血、拡大リンパ節、リンパ球増加の臨床症状、およびネコ白血病ウイルス試験(Pitman-Mooreの白血病検定法)陽性を示す子ネコに、ウシ破壊芽細胞インターフェロン(実施例1)  $1.7 \times 10^5$  単位を経口投与した。口腔潰瘍は治癒し、貧血は回復し、リンパ節は正常となり、血中のネコ白血病ウイルス抗原の量は減少した(測定は血液の連続希釈による白血病検定法により行なつた)。しかし、リンパ球増加は続いたままであつた。

貧血、抑うつ、嘔吐および体重減少の臨床症状を6週

もインターフェロン療法による副作用の徴候も認められなかった。

B. 2番目の女性患者1名は2年間脚に悪性黒色腫を患い、2度の外科処置を含む治療処置を受けていた。下脚部切断手術は拒絶された。Laetrile治療を開始したが、腫瘍の広や大きさが増加するのを妨げ得なかった。インターフェロン療法を以下の経口投与計画に従って開始した。

| 週  | 使用したインターフェロンの種類 | 投与回数    | 総用量       |
|----|-----------------|---------|-----------|
| 1  | 実施例1            | 21(BID) | 8,400単位   |
| 3  | 実施例1            | 21(BID) | 5,900単位   |
| 5  | 実施例2            | 15(BID) | 3,000単位   |
| 7  | 実施例1            | 15(BID) | 3,000単位   |
| 11 | 実施例1            | 15(BID) | 15,400単位  |
| 13 | 実施例1            | 19(BID) | 11,900単位  |
| 16 | 実施例2            | 9(BID)  | 25,400単位  |
| 19 | 実施例2            | 17(BID) | 40,000単位  |
| 22 | 実施例2            | 16(BID) | 320,000単位 |

ほぼ113,000単位が第22週の間に経口投与され、総投与量は483,000単位であつた。治療開始1週以内に腫瘍は著しく乾燥し、ほとんど包帯を交換する必要がなかった。通出液や導出液はほとんどなくなった。次の諸週にわたって大きな腫瘍は縮小して平たくなり、小さな腫瘍もさらに小さくなった。脚部痛は

間示している別のネコは、ネコ白血病ウイルス陽性(白血病検定法)であることがわかつた。同腹仔1匹が2カ月前にネコ白血病で死んでいた。ウシインターフェロン(実施例1)  $1 \times 10^5$  単位で経口投与すると、このネコは臨床的には正常に復したが、体重増加はまだ先の体重減少を償うに至っていない。血中のネコ白血病ウイルス抗原の量は8週間内には減少しなかった。

白血球増加、貧血、極度の抑うつを示し、またネコ白血病ウイルス(白血病検定法)に陽性な第3匹目のネコは、5日間、総用量  $5 \times 10^5$  単位の実施例1のウシインターフェロンで治療した。アレドニソロンも投与した。治療10日以内に、ネコは臨床的に正常となり、白血球数は正常に復し、ヘマトクリットは12から18改善された。

#### 実施例 7

ハムスター3匹、モルモット4匹およびマウス8匹に実施例1のウシインターフェロンをいろんな量、経口投与した。処置期間中は発病を来さず、体重減少もなく、インターフェロンに帰因する毒性徴候は、1週間の治療の後も、組織病理学的に認められなかった。インターフェロンの総投与量は最大400,000単位/kg体重であつた。

前述の実施例はウシインターフェロンの使用を述べており、またウシインターフェロンは入手し易いため比較

的大量が用いられているが、哺乳動物はブタ、ウマ、ウサギ、ネコおよびヒト起源の異種インターフェロンで有効であった。種を超えてのインビトロでの抗ウイルス作用の程度は様々であることが、ウシ、ブタ、ウマ、ウサギ、ネコおよびヒトで述べられている。[Tovey et al., J. Gen. Virol., 36, pp.341-344 (1977); Carter, Life Sciences, 25, pp.717-728 (1979); Babiuk および Rouse, Intervirology, 8, pp.250-256 (1977); Desmyter および Stewart, Virology, 70, pp.451-458 (1976); Stewart, The Interferon Systems, Springer Verlag, N.Y., N.Y., pp.135-145 (1979) を参照のこと]。幾分種を超えて抗ウイルス作用を示すインターフェロンは、完全なインターフェロン分子との結合から遊離した際同様の抗腫瘍作用を示す、共通のアミノ酸配列を有しているようである。

リン酸緩衝生理食塩液あるいはイーグルスの最小必須増地をインターフェロンの担体として上記実施例では使用したが、経口および非経口療法において普通使用されている他の薬学的に認められている希釈剤、賦形剤および担体を使用してもかまわない。

上記実施例はヒト並びにネコでの治療的使用に関するものであるが、ウマ、ウシおよびウサギでも同様に治療し得る。

治療効果を示すに要する用量は、腫瘍哺乳動物や処置条件に依存しかなり広範囲にわたるものと思われ、体質

好当り約10ないし1,000単位で効果が得られるものと思われる。

本発明を別の観点から見れば、特異的な異種インターフェロン分離物を消化条件下でうまく前処理し、被処置動物の循環系に投与し得る。そうすることは、例えばペプシンの強い酸性溶液および／または消化過程に働く種々の酵素物質の溶液または懸濁液から成る適当な消化環境中において、インビトロでその分離物を「予め消化」させることも意味している。仮にその消化環境が計画した被処置動物のそれを十分に再現しているならば、試験、作用物質並びに反応生成物の全てが一括に被処置動物の栄養管に投与され、この分離物の生物活性成分は循環系へ移行するであろう。あるいは、活性成分を含む「消化された」分離物を再生し、即ち消化環境からより小さな分子量成分として分離し（例えば、透析、遠心分離およびクロマトグラフにより）、経口あるいは非経口投与する。どちらの場合においても、活性成分は受動物の循環系中に適当な早さで取り込まれ、通常「異質の」、分解ポリペプチドの投与に伴なつて起こる副作用発現の危険はある意味で本質的に除外されている。

以上の記載並びに実施例を参照すれば、当業者は本発明の範囲を逸脱することなく、その実施方法につき各態の改変を容易になし得るであろう。

# 国際調査報告

International Application No PCT/US81/01103

|   |  |                          |
|---|--|--------------------------|
| I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all)   |  |                          |
| According to International Patent Classification (IPC):   |  |                          |
| Int. Cl. 8A61K 45/02, 37/00   |  |                          |
| US Cl. 424/85, 177  |  |                          |
| II. FIELDS SEARCHED   |  |                          |
| Minimum Documentation Searched *  |  |                          |
| Classification System   | Classification Symbols   |                          |
| US  | 424/85, 177; 260/112R; 435/68, 811   |                          |
| Documentation Searched other than Minimum Documentation<br>to the extent that such Documents are included in the Fields Searched *  |  |                          |
| Chemical Abstracts -- Interferon, Volumes 66 to 94  |  |                          |
| III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT **   |  |                          |
| Category *  | Citation of Document, * with indication, where appropriate, of the relevant passages **  | Relevant to Claim No. 14 |
| X,P   | US, A. 4,273,701, Published 16 June 1981, Osther et al.  | 1-17                     |
| X   | N, Pharmacology and Therapeutics, Volume 8, No. 2, issued 1980 (Great Britain), Carter and Horoszewicz, "Production, Purification And Clinical Application Of Human Fibroblast Interferon", See pages 367-374. | 1-17                     |
| X   | N, Pharmacology and Therapeutics, Volume 2, No. 4, issued 1978 (Great Britain), Pollard and Merigan, "Experience With Clinical Applications Of Interferon And Interferon Inducers", See pages 783-811.         | 1-17                     |
| A,P   | N, Journal Of American Medical Association, Volume 245, No. 2, issued 1981 (U.S.), Johnson, "Interferon: Cloudy but intriguing future".  | 1-17                     |
| * Special categories of cited documents: **   |  |                          |
| "A" document defining the general state of the art  |  |                          |
| "E" earlier document but published on or after the international filing date  |  |                          |
| "L" document cited for special reason other than those referred to in the other categories  |  |                          |
| "O" document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means   |  |                          |
| "P" document published prior to the international filing date but on or after the priority date claimed   |  |                          |
| "T" later document published on or after the international filing date or priority date and not in conflict with the invention, but cited to understand the principles or theory underlying the invention |  |                          |
| "C" document of particular relevance  |  |                          |
| IV. CERTIFICATION   |  |                          |
| Date of the Actual Completion of the International Search *   | Date of Mailing of this International Search Report *  |                          |
| 30 October 1981   | 20 NOV 1981  |                          |
| International Searching Authority *   | Signature of Authorized Officer to   |                          |
| ISA/US  | Shadi Haddad   |                          |